

AAV5 Titration ELISA Kit

产品信息

产品名称	产品货号	规格
AAV5 Titration ELISA Kit	AV5-MM00B	96 T

产品性质

组分编号	组分名称	规格	组分描述	储存
AV5-MM00B-1	AAV5 标准品	3 瓶 (2.00E+09 capsids/ml)	AAV5 冻干粉, 用 700 μ l ddH ₂ O 复溶后, 滴度为 2.00E+09 capsids/ml	2-8°C
AV5-MM00B-2	20 \times 检测抗体	750 μ l/管	用于和样本中 AAV5 结合	
AV5-MM00B-3	预制酶标板	96 孔/板	包被抗 AAV5 单克隆抗体	
AV5-MM00B-4	HRP 标记物	15 ml/瓶	与检测抗体结合, 并催化显色	
AV5-MM00B-5	20 \times 缓冲液	30 ml/瓶 \times 2	可用于稀释标准品或样品至使用滴度, 也可用于洗板	
AV5-MM00B-6	显色液	15 ml/瓶	用于显色	
AV5-MM00B-7	终止液	10 ml/瓶	0.5 M H ₂ SO ₄	

需自行准备的其他仪器: 酶标仪 (全波长或带有 450 nm 滤光片)、洗板机、移液器及吸头。

性能指标

- (1) 检测范围: 3.13E+07capsids/ml-2.00E+09capsids/ml
- (2) 灵敏度: 1.56E+07capsids/ml
- (3) 精密度: CV<10%

存储条件及有效期

收到本试剂盒之后, 请将试剂盒保存于 2-8°C, 未开封试剂盒以生产日期起有效期为 12 个月。复溶后的 AAV5 标准品可在 2-8°C 保存两周, 如需长期储存, 请在 -20°C 以下储存, 避免反复冻融。

检测原理

本试剂盒采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定样本中 AAV5 衣壳含量，将 AAV5 单克隆抗体预包被于 96 孔反应板中，并进行包装处理，保证其活性。加入校准品或待测样本后，标准品或样本中的 AAV5 衣壳会特异性结合到反应板上，再加入检测抗体和 HRP 标记物，形成抗体-抗原-[检测抗体]-[HRP 标记物]复合物，通过洗涤操作，将多余的检测抗体及 HRP 标记物除去。加入显色液后，HRP 催化其显色，显色强度与样品中的 AAV5 衣壳滴度成正比。用终止液终止反应后，在酶标仪上读取 450 nm 波长处的吸收值，即可计算出样品中的 AAV5 衣壳滴度。

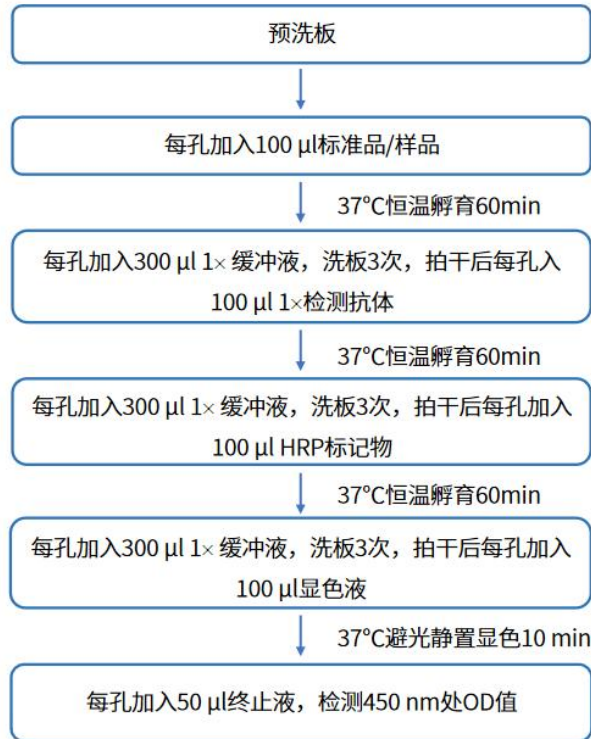
操作流程

- (1) 实验前将试剂盒从冰箱中取出，置于室温环境下，平衡至室温。
- (2) 配制 1×缓冲液：将 20×缓冲液用 ddH₂O 稀释至 1×备用。
- (3) 配制 1×检测抗体：将检测抗体用 1×缓冲液稀释 20 倍备用。
- (4) 配制标准品：取出标准品，加入 700 μl ddH₂O，室温溶解 10-20 min，适当混匀，避免涡旋。取 250 μl 标准品用 1×缓冲液按 2 倍倍比依次将 2.00E+09 capsids/ml 标准品稀释成 1.00E+09 capsids/ml、5.00E+08 capsids/ml、2.50E+08 capsids/ml、1.25E+08 capsids/ml、6.25E+07 capsids/ml、3.13E+07 capsids/ml 共 7 个滴度，使用 1×缓冲液作为零点标准品，每个滴度标准品均应设置复孔。
- (5) 预洗：根据需要测试的量，取出 96 孔反应板，洗板 1 次，每孔可加入 300 μl 的 1×缓冲液，洗涤后拍干，未使用的板条请尽快放入密封袋中并于 2-8°C 保存。
- (6) 加样：分别将标准品和样本加入到 96 孔反应板中，每孔加入 100 μl，37°C 恒温孵育 60 min。
- (7) 加 1×检测抗体：将上一步反应后的 96 孔板使用 1×缓冲液连续洗板 3 次，每孔加入 300 μl 的 1×缓冲液，拍干后立即在每孔中加入 100 μl 的 1×检测抗体，37°C 恒温孵育 60 min。
- (8) 加 HRP 标记物：将上一步反应后的 96 孔板洗板 3 次，每孔加入 300 μl 的 1×缓冲液，拍干后每孔加入 100 μl 的 HRP 标记物，37°C 恒温孵育 60 min。

(9) 显色读数：将上一步反应后的 96 孔板洗板 3 次，每孔 300 μl 的 1 \times 缓冲液，拍干后每孔加入 100 μl 显色液。

37 $^{\circ}\text{C}$ 避光静置显色 10 min，每孔加入 50 μl 终止液，轻轻混匀。立即用酶标仪读取各孔在 450 nm 波长处的 OD 值。

(建议 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热显色液，终止反应到读取 OD 值请在 5 min 内完成)



数据处理

(1) 制作标准曲线

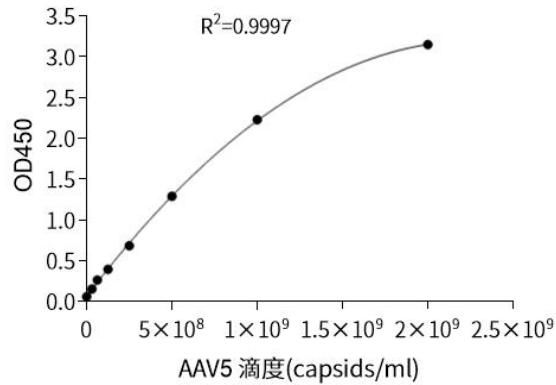
以标准品的滴度为横坐标，OD 值为纵坐标。如有设置复孔，则应取其平均值计算。多种绘图和统计学软件可以用于辅助绘制标准曲线并进行未知样本滴度的计算。一般四参数拟合效果较好，其它拟合方式也可获得较好拟合结果，需根据具体实验数据进行判断。

(2) 计算样品滴度

将样品的 OD 值代入标准曲线的拟合方程式，计算出样品滴度，即为样品的实际滴度。最低定量限 (LOQ) 为 3.13E+07 capsids/ml，低于 3.13E+07 capsids/ml 报告为 <3.13E+07 capsids/ml。若样品 OD 值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算最终滴度时乘以相应稀释倍数。

示例：

AAV5 滴度(capsids/ml)	OD450
2.00E+09	3.150
1.00E+09	2.230
5.00E+08	1.290
2.50E+08	0.684
1.25E+08	0.394
6.25E+07	0.265
3.13E+07	0.154
0.00E+00	0.060



注意事项

- (1) 预制酶标板可拆卸，拆卸时切勿碰触孔底，以免指纹、刮痕等影响后续读值。洗板后，切勿放太久以免干燥，需立即进行下一步操作。
- (2) 20×缓冲液在 4°C时会有结晶析出属于正常现象，恢复室温后混匀即可使用。
- (3) 为保证测试准确，请勿与其他商品化试剂盒混用，试剂盒不同批次中的组分也不要混用，每次检测均需做标准曲线，每个标准品应设置复孔。
- (4) 所有试剂使用前必须平衡至室温（18-25°C），显色液使用前预热至 37°C。
- (5) 每次洗板之后，须确保反应孔中没有液体残留。
- (6) 使用洗板机洗板可减少实验操作误差，也可手工洗板，手工洗板建议每次添加洗液后浸泡 1 min。
- (7) 显色反应需要避光，并严格控制在 10 min。
- (8) 终止液中含有硫酸，若溅到眼睛或皮肤上，立即使用大量自来水清洗。
- (9) 在使用标准品时，应轻轻混匀，避免涡旋以及剧烈震荡。
- (10) 本产品仅作科学研究使用，不得用于其它用途。